

JPH2 基因 p. R616C 突变与家族性扩张型 心肌病的相关性分析*

梁晴¹ 程维礼¹ 张莱¹ 张郁青¹ 陶琴¹

[摘要] 目的:对 1 例家族性扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy,DCM)家系进行致病基因筛查,分析其基因型与表型的相关性。方法:研究对象为 1 例 DCM 先证者及其家系成员,另选取体检中心健康成年人作为对照。收集先证者家系的临床资料,对先证者及发病家系成员进行全基因组测序,筛选可疑致病基因,并通过 Sanger 测序法进行验证。对其他家系成员及对照组进行相关基因筛查。结果:对该家系筛查发现包括先证者在内的 5 例 DCM 患者,且基因检测发现均存在 *JPH2* 基因的 c. 1846C>T(p. Arg616Cys) 突变,另有 1 例无临床表型的突变基因携带者。余家系成员及对照组相同位点未见异常。在随访过程中先证者出现恶性心律失常。结论:本研究发现 *JPH2* 基因的 p. R616C 突变可能导致家族性 DCM,且该基因突变可能为恶性基因突变。

[关键词] 扩张型心肌病;*JPH2*;基因突变

DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2023.04.013

[中图分类号] R542.2 **[文献标志码]** A

Correlation analysis between p. R616C mutation of *JPH2* gene and familial dilated cardiomyopathy

LIANG Qing CHENG Weili ZHANG Lai ZHANG Yuqing TAO Qin

(Department of Cardiology, The Affiliated Jiangning Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, 211100, China)

Corresponding author: TAO Qin, E-mail: tqsz07277@163.com

Abstract Objective: The aim was to screen the pathogenic genes and analyze the genotype-phenotype correlation in a pedigree with dilated cardiomyopathy. **Methods:** The proband with dilated cardiomyopathy(DCM) and his family members were included in this study, while healthy controls from physical examination centers were selected. Clinical data were collected through genetic counseling. The whole genome testing was carried out to screen for suspected pathogenic genes in the proband and affected members. Candidate mutations were further confirmed by Sanger sequencing. Genetic testing was performed on other family members and controls. **Results:** Five patients with DCM were identified in this family, and the same mutation in the *JPH2* gene (c. 1846C>T/p. Arg616Cys) was found in all of them. There was also one carrier with no obvious clinical phenotype. This variant was absent in other family members and controls. The proband developed malignant arrhythmia during follow-up. **Conclusion:** In this study, we find that *JPH2* p. R616C variant probably contributes to familial dilated cardiomyopathy, and the mutation may be malignant.

Key words dilated cardiomyopathy; *JPH2*; gene mutation

扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)是一种以左心室或双心室扩大伴心肌收缩功能障碍为主要特征的心肌疾病,其患病率约为 1/250^[1],根据是否有遗传基础可分为家族性扩张型心肌病(FDCM)或非 FDCM^[2],其中 FDCM 约占 DCM 的 30%~50%^[3]。目前研究者发现了越来越多的基因与 DCM 相关,*JPH2* 基因是近几年发现与 DCM 相关的连接蛋白基因,主要在心肌中表达,少量表达于骨骼肌,定位于 20q13.12。目前

国外报道 *JPH2* 基因突变与 DCM、肥厚型心肌病(HCM)及心律失常等疾病相关^[4-8],是导致 FDCM 的中等证据基因^[9]。但国内关于 *JPH2* 基因突变致 DCM 的案例较少,本研究在中国 1 例 FDCM 家系中发现了 *JPH2* 基因的 c. 1846C>T(p. R616C) 罕见突变,并进一步探讨该基因突变与 DCM 临床表型的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

研究对象为 2020 年入住南京市江宁医院心内科的 DCM 先证者及其家系成员共 31 例,另随机选取 50 例南京市江宁医院体检中心的健康成年人

*基金项目:南京市卫生科技发展专项资金项目(No:YKK20195)

¹南京医科大学附属江宁医院心血管内科(南京,211100)

通信作者:陶琴,E-mail:tqsz07277@163.com

为对照组,研究对象与对照组的性别、年龄、种族差异无统计学意义。研究方案经医院伦理委员会批准,研究参与者均已签署知情同意书。

1.2 临床资料收集

通过遗传咨询收集先证者及其家系成员的临床资料,包括病史、体征、家族史、实验室检查、心电图(ECG)、超声心动图(UCG)、心脏磁共振(CMR)等检查结果。DCM的诊断标准主要包括左室舒张末期内径(LVEDd) >50 mm(女性)和LVEDd >55 mm(男性);伴左室射血分数(LVEF) $<45\%$ (Simpsons法);同时排除高血压性心脏病、缺血性心脏病、先天性心脏病、心脏瓣膜病等。FDCM的诊断标准为:家系中包括先证者在内 ≥ 2 例DCM患者;或家系中有 <50 岁不明原因猝死者^[10]。

1.3 基因筛查

收集先证者家系成员及对照组外周静脉血样本(5 mL, EDTA抗凝),提取样本基因组DNA后进行全基因组二代测序。测序获得的原始数据经质量评估后,使用比对工具Burrow-Wheeler aligner(BWA)与人类参考基因组序列(GRCh37/HG19)进行比对,进一步使用GATK Haplotype-Caller程序检测单核苷酸多态性(SNPs)和插入-缺失突变(InDELS),对过滤后的变异使用ANNOVAR程序进行注释,得到高度可信的变异结果,进一步利用Sanger一代测序法进行验证。经一代验证阳性的结果考虑可能为致病基因,并进一步对家系中其他成员及对照组进行相关责任致病基因筛查。绘制家系图谱。

2 结果

2.1 家系临床资料

先证者(II-1),男性,67岁,2020年因反复活动后胸闷气喘入住我院。ECG:窦性心律;ST段压低($V_4 \sim V_6$);T波倒置(I 、 II 、 $V_4 \sim V_6$)。UCG及CMR提示左室扩大、心肌纤维化(图1)。冠状动脉(冠脉)CTA未见明显狭窄。患者明确诊断为DCM。2021年再次因胸闷气喘加重入院,查ECG示心房颤动(房颤),UCG:LVEDd 71 mm, LVEF 13%(图2),并在入院当天突发心室颤动(室颤),经评估病情后植入埋藏式心脏复律除颤器(ICD)。

家系成员情况:先证者2个妹妹(II-5、II-9)、儿子(III-1)及先证者女儿(III-3)UCG均提示左室扩大伴心肌收缩功能下降,诊断为DCM。其中II-9、III-1 CMR示心肌延迟强化。II-5、III-1表现为活动后胸闷气喘,II-5 2013年曾因二尖瓣关闭不全于外院行二尖瓣机械瓣置换术。II-9以心慌为主要表现,ECG、动态心电图提示频发室性期前收缩。III-3及IV-3(先证者孙女)均无明显临床症状。家系成员临床资料见图3及表1。

2.2 基因筛查结果

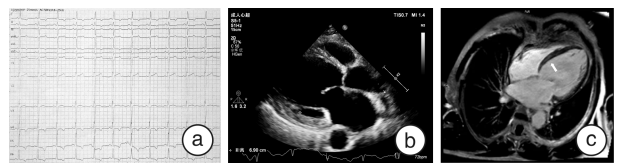
先证者全基因组测序发现*JPH2*基因存在一个杂合子错义突变,1846位碱基C $>$ T,导致*JPH2*蛋白的第616位精氨酸替换为半胱氨酸。通过对家系成员进行基因筛查,筛选出该家系中其他5名成员携带该突变基因。余家系成员及对照组中相同位点未见异常。*JPH2*基因测序峰图见图4。

2.3 家系成员基因型与表型的关系

对DCM先证者家系进行分析,先证者、先证者妹妹及儿子均以活动后胸闷气喘为首发表现;先证者另一个妹妹以心慌为主要症状,伴稍有活动后胸闷气喘;而先证者女儿未表现出明显的临床症状,他们经UCG检查均确诊为DCM。同时基因检测发现他们均携带*JPH2*p. R616C突变,另有1例突变基因携带者因年龄尚小尚未表现出DCM表型,而对照组中相同位点均未发现该突变。我们推测此突变基因可能是该FDCM的致病基因,且遗传方式符合常染色体显性遗传。先证者家系图谱见图5。

2.4 生物信息学分析

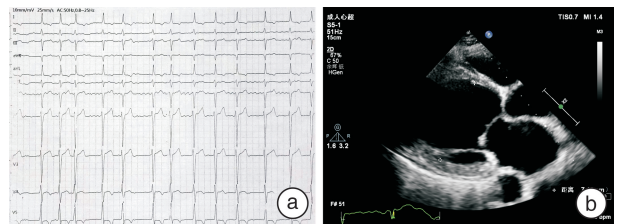
从UniProt(<https://www.uniprot.org>)获取人类及其他物种*JPH2*蛋白氨基酸序列,并利用UGENE软件分析发现*JPH2*第616位氨基酸在人类与黑猩猩、狒狒等多个哺乳动物物种间具有高度保守性(图6)。同时,利用SIFT致病性预测软件(<http://sift.jcvi.org>)预测该突变是有害的。进一步通过I-Mutant Suite对蛋白质稳定性进行预测,发现突变后的蛋白质自由能变化值为 -0.66 Kcal/mol,提示突变后蛋白质稳定性大幅度降低。



a: ECG; b: UCG; c: CMR 提示心肌纤维化。

图1 先证者辅助检查结果

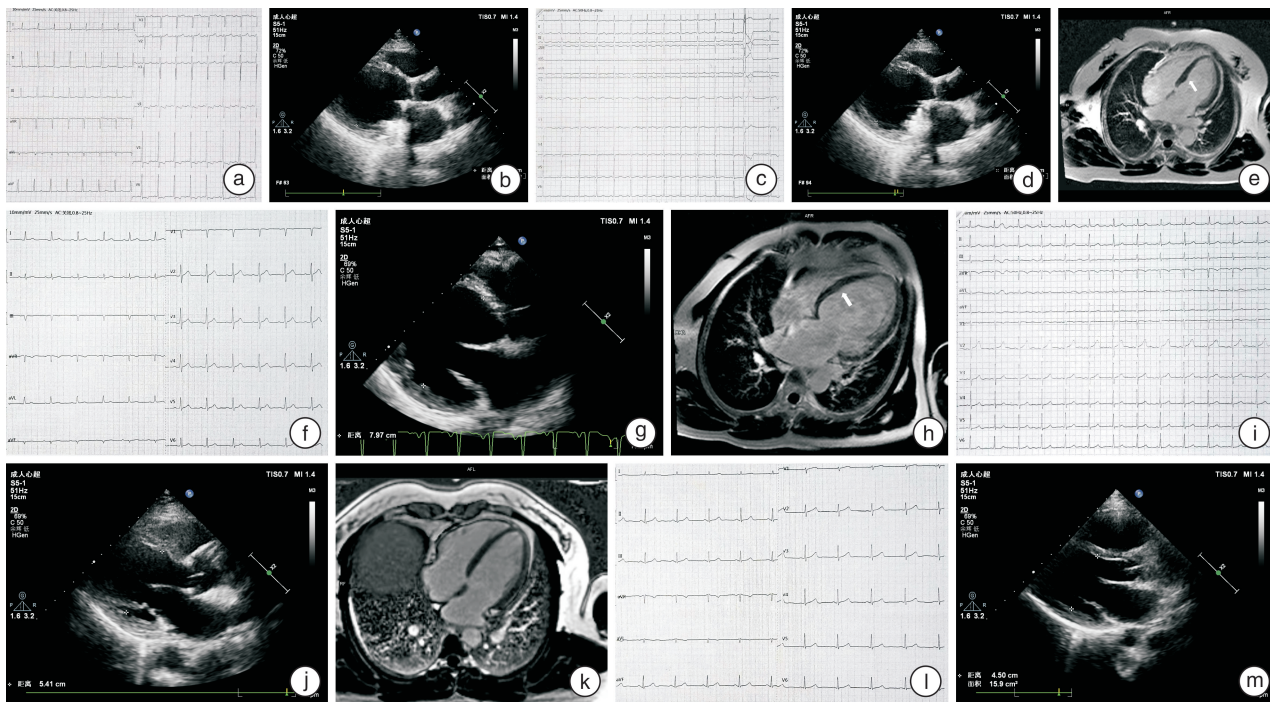
Figure 1 Examination results of proband



a: ECG 提示房颤; b: UCG。

图2 先证者随访中辅助检查结果

Figure 2 Examination results of proband during follow-up



a, b:先证者妹妹(II-5) ECG、UCG; c~e:先证者妹妹(II-9) ECG、UCG、CMR; f~h:先证者儿子(III-1) ECG、UCG、CMR; i~k:先证者女儿(III-3) ECG、UCG、CMR; l, m:先证者孙女(IV-3) ECG、UCG。

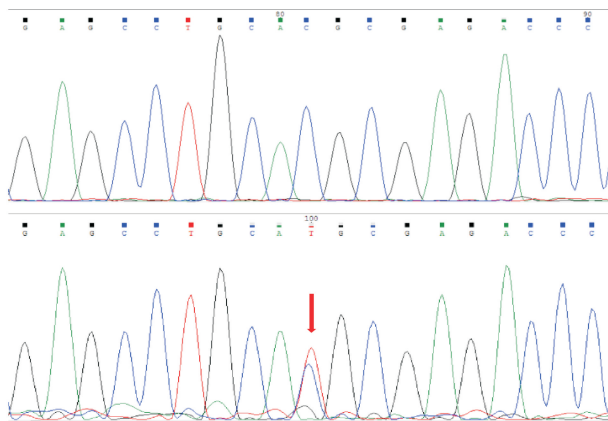
图3 先证者家系成员辅助检查结果

Figure 3 Examination results of affected family members

表1 先证者家系临床资料

Table 1 Clinical data of the proband's family

成员	性别	年龄/岁	症状	ECG	UCG		CMR 纤维化
					LVEDd/mm	LVEF/%	
II-1	男	67	活动后胸闷气喘	房颤	71	13	+
II-5	女	61	活动后胸闷气喘	窦性心律;ST-T 改变	59	34	未做
II-9	女	55	心慌伴胸闷气喘	窦性心律;室性期前收缩	57	40	+
III-1	男	43	活动后胸闷气喘	窦性心律	80	19	+
III-3	女	41	—	窦性心律	54	43	—
IV-3	女	19	—	窦性心律	45	64	未做



上图为野生型 *JPH2*; 下图箭头所指处为 *JPH2* c.1846C>T 突变。

图4 *JPH2* 基因测序结果

Figure 4 Sequencing results of *JPH2* gene

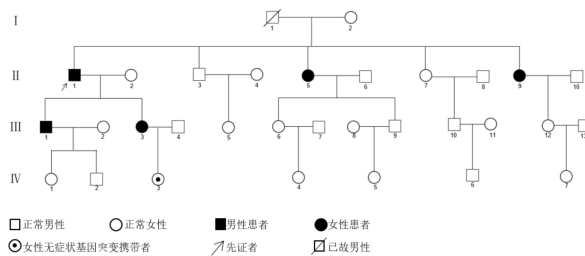


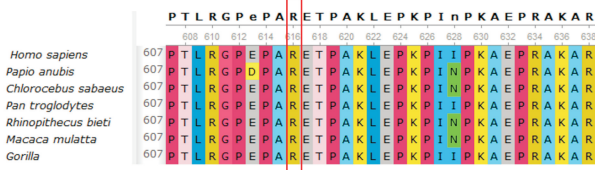
图5 DCM 家系图谱

Figure 5 Pedigree of the family affected by DCM

3 讨论

DCM 是引起心力衰竭(心衰)、心律失常乃至心源性猝死的常见疾病^[11],其病因众多,包括遗传、病毒感染、自身免疫反应、毒素等^[12]。随着人类基因组测序技术的发展,遗传因素在 DCM 中的

作用逐渐被重视,目前已发现超 100 个基因与 DCM 有关^[13-14],主要为编码肌节、核膜、细胞骨架、桥粒等的基因^[15-16]。



红色框内为不同物种第 616 位氨基酸种类。

图 6 不同种属 *JPH2* 蛋白序列对比

Figure 6 Alignment of multiple *JPH2* protein sequences across species

JPH2 基因编码的蛋白是膜连接复合物 (JMCs) 的重要组成部分,是心肌实现收缩和舒张的基础^[17],*JPH2* 的异常可影响 T 管的成熟及 JMCs 的完整性^[18-21]。本研究发现携带 *JPH2* R616C 突变的先证者家系表现出 DCM 表型,该突变可能导致 *JPH2* 蛋白结构和功能的改变,影响心肌收缩及舒张功能从而导致心衰。

JPH2 蛋白主要由膜占据和识别区 (MORN 区)、连接区、 α 螺旋区、可变区和跨膜区组成^[17],最近有研究认为,*JPH2* 蛋白不同变异部位导致的心肌疾病类型存在差异,其中导致 DCM 的 *JPH2* 突变主要位于 MORN 区以外的区域^[22]。该家系突变位点编码的第 616 位氨基酸位于可变区,与研究结果相符,同时亦表明可变区在 *JPH2* 蛋白中起着重要作用。

JPH2 基因一些位点的突变与心律失常相关^[8,17],其可能的作用机制为 *JPH2* 蛋白的异常导致 ryanodine 受体 (RyR2) 的稳定性降低、舒张期钙泄露增加从而易引发心律失常^[23-24]。先证者在随访中出现房颤、室颤;先证者妹妹 (II-9) 以心慌为首表现,动态心电图示频发室早,与既往研究结果相符,提示 *JPH2* R616C 突变可能与心律失常有关。此外对于已报道的 *JPH2* 突变致 FDCM 的案例分析发现,携带 *JPH2* 突变基因的先证者家系死亡率及心脏移植率明显升高^[4-6]。与此类似,先证者在病程中出现了呼吸心搏骤停,评估病情后植入了 ICD,这提示该家系所携带的 *JPH2* 基因突变可能为恶性基因突变。当然,我们也应考虑到先证者由于心脏结构破坏引起的传导结构受损与恶性心律失常的相关性。

通过全基因组测序,我们在 1 例 FDCM 中发现了 *JPH2* 基因的一个新的错义突变 (p. R616C),该基因可能为 DCM 的致病基因,并且该基因突变可能为恶性基因突变。但本研究为单一的家系研究,同时未进行细胞及动物实验进一步验证,具有

一定的局限性,未来仍需要更多的临床及实验室证据证明该基因突变与 DCM 的相关性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Mckenna WJ, Judge DP. Epidemiology of the inherited cardiomyopathies[J]. Nat Rev Cardiol, 2021, 18(1): 22-36.
- [2] Schulz LP, Vischer AS. Cardiomyopathies in the Clinical Practice-an Overview [J]. Praxis (Bern 1994), 2022, 111(11): 623-631.
- [3] Huang YS, Xing YL, Li HW. Heterozygous desmin gene (DES) mutation contributes to familial dilated cardiomyopathy [J]. J Int Med Res, 2021, 49(4): 3000605211006598.
- [4] Sabater-Molina M, Navarro M, Garcia-Molina Saez E, et al. Mutation in *JPH2* cause dilated cardiomyopathy [J]. Clin Genet, 2016, 90(5): 468-469.
- [5] Jones EG, Mazaheri N, Maroofian R, et al. Analysis of enriched rare variants in *JPH2*-encoded junctophilin-2 among Greater Middle Eastern individuals reveals a novel homozygous variant associated with neonatal dilated cardiomyopathy [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 9038.
- [6] Miura A, Kondo H, Yamamoto T, et al. Sudden Unexpected Death of Infantile Dilated Cardiomyopathy with *JPH2* and *PKD1* Gene Variants [J]. Int Heart J, 2020, 61(5): 1079-1083.
- [7] Walsh R, Offerhaus JA, Tadros R, et al. Minor hypertrophic cardiomyopathy genes, major insights into the genetics of cardiomyopathies [J]. Nat Rev Cardiol, 2022, 19(3): 151-167.
- [8] Patel V, Chahal C. Editorial commentary: Genomic and precision medicine provides deeper insights into the genetic basis of diverse *JPH2*-mediated phenotypes [J]. Trends Cardiovasc Med, 2023, 33(1): 11-12.
- [9] Jordan E, Peterson L, Ai T, et al. Evidence-Based Assessment of Genes in Dilated Cardiomyopathy [J]. Circulation, 2021, 144(1): 7-19.
- [10] 中华医学会心血管病学分会, 中国心肌炎心肌病协作组. 中国扩张型心肌病诊断和治疗指南 [J]. 临床心血管病杂志, 2018, 34(5): 421-434.
- [11] Njoroge JN, Mangena JC, Aribeana C, et al. Emerging Genotype-Phenotype Associations in Dilated Cardiomyopathy [J]. Curr Cardiol Rep, 2022, 24(9): 1077-1084.
- [12] Schultheiss HP, Fairweather D, Caforio ALP, et al. Dilated cardiomyopathy [J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 32.
- [13] Peters S, Johnson R, Birch S, et al. Familial Dilated Cardiomyopathy [J]. Heart Lung Circ, 2020, 29(4): 566-574.
- [14] 陈香璇, 程维礼, 张郁青, 等. TTN 及 MYH7 多基因突变与一家族性扩张型心肌病的相关性分析 [J]. 临床心血管病杂志, 2021, 37(8): 744-748.

体外循环下心脏术后发生急性呼吸窘迫综合征的危险因素分析及其预测价值*

陈永良¹ 薛晶² 房大广¹ 田雪飞¹ 王磊¹ 王艳华¹ 严晓丽² 冯增斌¹

[摘要] 目的:分析体外循环下心脏术后急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)发生的危险因素及其预测价值。方法:选取2016年11月—2020年12月承德医学院附属医院行体外循环下心脏手术患者283例,依据术后是否发生ARDS分为ARDS组和非ARDS组,统计2组患者临床资料,采用多因素logistic回归分析探讨体外循环下心脏术后ARDS的危险因素,采用ROC曲线分析危险因素对ARDS的预测价值。结果:单因素logistic回归分析结果显示:年龄、体重指数、脑梗死、心功能等级、置换生物瓣、急行体外循环、体外循环时长、主动脉阻断时长、二次开胸与术后ARDS相关($P < 0.05$)。多因素logistic回归分析显示年龄、体重指数、体外循环时长、主动脉阻断时长、心功能(NYHA分级)、二次开胸为术后ARDS发生的独立危险因素。ROC曲线分析ARDS发生效果最好的是体外循环时长(截断值为110.5 min,曲线下面积为0.794);其次是主动脉阻断时长;再次为体重指数。结论:年龄 > 60.5 岁、体重指数 > 24.4 kg/m²、体外循环时间 > 110.5 min、主动脉阻断时间 > 74.5 min对体外循环下心脏术后发生ARDS有预测价值,多因素联合分析显示年龄+体重指数+体外时长预测敏感度达90%。

[关键词] 体外循环;心脏手术;急性呼吸窘迫综合征;危险因素

DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2023.04.014

[中图分类号] R654.1 **[文献标志码]** A

Risk factors and predictive value of acute respiratory distress syndrome after cardiac surgery under cardiopulmonary bypass

CHEN Yongliang¹ XUE Jing² FANG Daguang¹ TIAN Xuefei¹ WANG Lei¹
WANG Yanhua¹ YAN Xiaoli² FENG Zengbin¹

(¹Department of Cardiac Surgery, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, 067000, China; ²Chengde Medical College)

*基金项目:河北省教育厅青年科学基金(No:QN2019131);河北省医学科学研究青年科技课题项目(指令性课题 No:20200182);承德市科技计划项目(No:202006A048)

¹承德医学院附属医院心脏外科(河北承德,067000)

²承德医学院

通信作者:薛晶, E-mail:18233844007@163.com

引用本文:陈永良,薛晶,房大广,等.体外循环下心脏术后发生急性呼吸窘迫综合征的危险因素分析及其预测价值[J].临床心血管病杂志,2023,39(4):307-312. DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2023.04.014.

- [15] Chen SN, Mestroni L, Taylor MRG. Genetics of dilated cardiomyopathy [J]. *Curr Opin Cardiol*, 2021, 36(3):288-294.
- [16] Mazzarotto F, Tayal U, Buchan RJ, et al. Reevaluating the Genetic Contribution of Monogenic Dilated Cardiomyopathy [J]. *Circulation*, 2020, 141(5):387-398.
- [17] Lehnart SE, Wehrens XHT. The role of junctophilin proteins in cellular function [J]. *Physiol Rev*, 2022, 102(3):1211-1261.
- [18] Setterberg IE, Le C, Frisk M, et al. The Physiology and Pathophysiology of T-Tubules in the Heart [J]. *Front Physiol*, 2021, 12:718404.
- [19] Douard M, Brette F. Transverse tubules strike back: may the junctophilin-2 be with you [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(1):7-8.
- [20] Poulet C, Sanchez-Alonso J, Swiatlowska P, et al. Junctophilin-2 tethers T-tubules and recruits functional L-type calcium channels to lipid rafts in adult cardiomyocytes [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(1):149-161.
- [21] Yamakawa S, Wu D, Dasgupta M, et al. Role of t-tubule remodeling on mechanisms of abnormal calcium release during heart failure development in canine ventricle [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2021, 320(4):H1658-H1669.
- [22] Parker LE, Kramer RJ, Kaplan S, et al. One gene, two modes of inheritance, four diseases: A systematic review of the cardiac manifestation of pathogenic variants in JPH2-encoded junctophilin-2 [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2023, 33(1):1-10.
- [23] Luo T, Yan N, Xu M, et al. Junctophilin-2 allosterically interacts with ryanodine receptor type 2 to regulate calcium release units in mouse cardiomyocytes [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2022, 41(2):133-140.
- [24] Dibb KM, Louch WE, Trafford AW. Cardiac Transverse Tubules in Physiology and Heart Failure [J]. *Annu Rev Physiol*, 2022, 84:229-255.

(收稿日期:2022-11-17)